

Pengaruh berbagai pengolahan kulit singkong terhadap pencernaan bahan kering dan bahan organik secara *in vitro*, protein kasar dan asam sianida

Nico Simbolon, Retno Iswarin Pujaningsih dan Sri Mukodiningsih

Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro
Kompl. drh. R. Soejono Koesoemowardojo-Tembalang, Semarang Kode Pos 50275

nico.dr5591@gmail.com

ABSTRACT: The aims of the research was to evaluate the digestibility *in vitro* of dry matter and organic matter, the contents of protein crude and contents of HCN in cassava peel which were treated by fermentation, ammoniation, and fermentation ammoniation (amofer). Materials used in this research were cassava peel, EM4, urea, bran, HCL pepsin, rumen goat's liquor and Mc Dougall butter solution. Oven, analytical balance, pH meter, glass beaker tube of CO₂ gas, water bath, funnels, tube fermentor, centrifuges, ovens and thermos were used as the research equipment. This research consisted of 4 treatments and 4 replicators, (T0: Control; T1: Ammoniation; T2: Fermentation and T3: Ammoniation Fermentation (Amofer). Data were analyzed using completely randomized design (CRD) and were continued by Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The result of the research showed that dry matter content of T0, T1, T2 and T3 was 25.29, 50.69, 54.75 and 61.87% respectively. Organic matter digestibility contents of T0, T1, T2 and T3 was 23.52, 48.59, 2.62 and 61.87% respectively. Crude protein contents of T0, T1, T2 and T3 were 9.12, 22.28, 13.91 and 23.31% respectively. HCN content of T0, T1, T2 and T3 were 580.93, 3.10, 1.16 and 0.43 ppm respectively. The study showed that the treatment in T1, T2 and T3 had a significant effect ($p > 0.01$) on dry matter and organic matter, crude protein and HCN. The conclusion of this research was that amofer treatment could increase dry matter and organic matter, crude protein and could reduce the levels of HCN in cassava peel.

Keywords: cassava peel, ammoniation, fermentation and amofer

PENDAHULUAN

Usaha peternakan di Indonesia saat ini sedang mengalami kemajuan, namun tidak diimbangi dengan ketersediaan lahan, sehingga berpengaruh terhadap kontinuitas pakan. Sisa hasil pertanian memiliki potensi yang besar untuk memenuhi kebutuhan pakan ternak ruminansia (Prasetyawan dkk., 2012). Namun untuk memanfaatkan sisa hasil pertanian

sebagai bahan pakan lokal haruslah memenuhi 3 aspek, yaitu aspek kuantitas, kualitas dan kontinuitas.

Kulit singkong merupakan bagian dari hasil sisa pertanian yang ketersediaannya melimpah dan memiliki potensi sebagai bahan baku pakan. Nurlaili dkk., (2013) menyatakan bahwa limbah kulit singkong mengandung nutrisi antara lain bahan kering 17,45%, protein

8,11%, serat kasar 15,20%, lemak kasar 1,29%, kalsium 0,63% dan fosfor 0,22%. Namun Sandi dkk, (2013) menyatakan bahwa kulit singkong mengandung lignin 7,2%, selulosa 13,8% dan selulosa 11% serta HCN 109 ppm. Hal itu memungkinkan kulit singkong memiliki pencernaan yang rendah serta dapat meracuni ternak. Kadar HCN yang mampu ditolerir ternak tidak boleh lebih dari 50 ppm. Teknik pengolahan seperti amoniasi dan fermentasi dapat meningkatkan kadar protein, pencernaan serta dapat menurunkan kadar HCN pada kulit singkong (Hanifah dkk, 2010).

Amoniasi merupakan salah satu perlakuan kimia yang bersifat alkalis yang dapat melarutkan hemiselulosa serta memutuskan ikatan lignin dengan selulosa dan hemiselulosa. Hanifah dkk, (2010) menyatakan bahwa dengan amoniasi 3% BK kulit singkong dapat menaikkan PK dari 5,48% menjadi 17,8% dan menurunkan kadar HCN dari 459,56 ppm menjadi 2,38 ppm.

Fermentasi merupakan perlakuan secara biologis, yang melibatkan mikroorganisme pada prosesnya. Fermentasi kulit singkong dengan menggunakan bakteri *Tricoderma reesi* dapat menurunkan kadar HCN secara drastis dari 459,56 ppm menjadi 0,77 ppm (Hanifah dkk, 2010). Santoso dan Aryani (2007) menyatakan bahwa penggunaan pakan yang difermentasi dengan EM4 dapat menyebabkan peningkatan daya cerna dan kandungan protein bahan.

Kombinasi pengolahan amoniasi fermentasi (amofor) merupakan salah satu cara peningkatan kualitas bahan pakan yang berserat. Proses fermentasi akan lebih efektif dalam meningkatkan pencernaan bahan pakan berserat bila dikombinasikan dengan perlakuan amoniasi terlebih dahulu, karena adanya pasokan nitrogen (Riswandi dkk, 2009).

MATERI DAN METODE

Materi

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 1 – 29 Februari 2016. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit singkong, EM4, urea, dedak, air, es batu, pepsin HCL, akuades, cairan rumen kambing dan larutan penyangga McDougall. Sedangkan alat yang digunakan ialah oven, gunting, pisau, plastik, timbangan analitik, tali rafia, kertas label, spidol, termometer, lakban, pH meter, eksikator, *crucible porcelain*, *beaker glass* tabung gas CO₂, *water bath*, corong, gelas ukur 25 ml dan 50 ml, tabung *fermentor*, *centrifuge*, pipet ukur 1 ml dan tanur, oven dan termos.

Metode

Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah T0 (kontrol/ tanpa perlakuan), T1 (amoniasi), T2 (fermentasi), T3 (amoniasi fermentasi. amofer). Parameter yang diukur pada penelitian ini antara lain pencernaan bahan kering dan bahan organik, kadar protein kasar dan asam sianida (HCN).

Tahap pertama yaitu pembuatan bahan kulit singkong dengan masing-masing perlakuan. Pada perlakuan kontrol hanya menggunakan kulit singkong yang sudah diangin-anginkan. Perlakuan amoniasi menggunakan 21,75 g urea, 100 ml air, dan 250 g kulit singkong (dengan kadar air 50%). Melarutkan urea kedalam 100 ml air, kemudian mencampurkan potongan kulit singkong dengan larutan urea. Semua bahan dimasukkan kedalam plastik dan diperam selama 21 hari.

Perlakuan fermentasi menggunakan 250 g kulit singkong, 366,67 ml air, 25 g dedak dan 10 ml

EM4. Lalu kulit singkong dan dedak dicampur hingga homogen, kemudian disterilisasi dalam autoclave selama 1 jam pada suhu 105 °C dan tekanan 1 atmosfer. Kemudian difermentasi dengan EM4 pada kondisi anaerob dan diperam dalam plastik selama 7 hari. Perlakuan amofer menggunakan 250 g kulit singkong, 206,25 ml air, 21,75 g urea, 25 g dedak dan 10 ml EM4.

Pertama kulit singkong dan dedak di autoclave selama 1 jam pada suhu 105 °C dan tekanan 1 atmosfer. Kemudian mencampurkan 21,75 g urea, 250 g kulit singkong serta 206,25 ml air hingga homogen, lalu dimasukkan dalam peraman dan diperam selama 2 hari dengan suhu ruangan. Setelah itu peraman dibuka, lalu memasukkan 25 g dedak dan 10 ml EM4 dan dicampur hingga homogen dan diperam lagi selama 19 hari.

Parameter pencernaan bahan kering dan bahan organik, kadar protein kasar serta kadar HCN dianalisis di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro dan Laboratorium Gizi Fakultas Gizi, Universitas Muhammadiyah, Semarang. Analisis pencernaan bahan kering dan bahan organik secara *in vitro* menggunakan metode modifikasi Tilley dan Terry (1963), sedangkan analisis protein kasar menggunakan metode Kjeldal dan analisis asam sianida (HCN) menggunakan metode Lian dan Hamir.

Kecernaan bahan kering dan pencernaan bahan organik ditentukan dengan rumus:

$$KcBK (\%) = \frac{BK a - (BK r - BK r b)}{BK asal} \times 100\%$$

$$KcBO (\%) = \frac{BO a - (BO r - BO r b)}{BO a} \times 100\%$$

Keterangan:

BK : Bahan kering

BO : Bahan organik

A : asal

R : residu

B : blanko

Protein kasar ditentukan dengan rumus:

$$\text{Perhitungan \% N :} \\ \frac{\text{vol. sampel} - \text{vol. blanko} \times M \text{ HCl} \times 14,01}{m \text{ sampel} \times 10}$$

$$\text{Protein kasar} = \% N \times 6,25$$

HCN ditentukan dengan rumus:

Perhitungan : Kandungan X x 1000

sianida = ----- (ppm) mg contoh

X = ug sianida pada kurva standard

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kecernaan bahan kering dan bahan organik

Berikut merupakan hasil dari pencernaan bahan kering dan bahan organik kulit singkong yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kecernaan bahan kering dan bahan organik kulit singkong

Perlakuan	Kecernaan bahan kering	Kecernaan bahan organik

T0	25,29 ^d	23,52 ^d
T1	50,69 ^c	48,59 ^c
T2	54,75 ^b	52,62 ^b
T3	61,87 ^a	60,09 ^a

Keterangan: Hasil analisis Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Perlakuan kontrol (T0), amoniasi (T1), fermentasi (T2) dan amofer (T3) pada kulit singkong menghasilkan pencernaan bahan kering masing-masing 25,29%, 50,69%, 54,75% dan 61,87%. Pada uji ANOVA T1, T2 dan T3 sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan pencernaan bahan kering kulit singkong.

Nilai pencernaan bahan kering tertinggi terdapat pada T3 yaitu amofer (61,87%). Hal ini disebabkan proses amofer diawali dengan proses amoniasi dimana pemberian urea akan merenggangkan ikatan antara selulosa dan lignin, mikroba yang terdapat pada EM4 dengan mudah mendegradasi serat pada kulit singkong sehingga mempermudah dalam meningkatkan pencernaan. Hastuti dkk, (2011) menyatakan bahwa amoniasi berfungsi memutuskan ikatan antara selulosa dan lignin, serta membuat ikatan serat menjadi longgar, sedangkan dalam proses fermentasi, enzim-enzim selulase dari berbagai mikroba selulolitik dapat melakukan penetrasi dengan lebih mudah dalam bahan pakan berserat tersebut, sehingga dapat menurunkan serat kasar yang pada akhirnya meningkatkan pencernaan.

Kecernaan bahan kering tertinggi kedua pada T2 yaitu fermentasi (54,75%). Beberapa bakteri, fungi dan *Actinomyces* pada EM4 dapat memproduksi enzim selulase yang mampu menurunkan kadar serat kasar serta meningkatkan pencernaan. Santoso dan Aryani (2007) menyatakan bahwa EM4 merupakan campuran kultur yang mengandung *Lactobacillus*, jamur fotosintetik, bakteri fotosintetik, *Actinomyces* serta ragi yang mampu menurunkan kadar serat kasar dan meningkatkan pencernaan bahan pakan.

Nilai pencernaan bahan kering terendah pada T1 yaitu amoniasi. Hal ini disebabkan perlakuan amoniasi

memberi proses perombakan dari struktur keras menjadi lunak (hanya struktur fisiknya), dalam hal ini berkaitan dengan pelunakan ikatan lignoselulosa yang pada hasilnya akan meningkatkan pencernaan pada kulit singkong tersebut. Prasetyawan dkk., (2012) menyatakan bahwa perlakuan amoniasi dapat meningkatkan pencernaan dengan melonggarkan ikatan lignoselulosa, menjadikan karbohidrat mudah dicerna, meningkatkan pencernaan dengan membengkakkan jaringan tanaman dan meningkatkan palatabilitas pakan.

Berdasarkan Tabel 1 juga dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol (T0), amoniasi (T1), fermentasi (T2) dan amofer (T3) pada kulit singkong menghasilkan pencernaan bahan organik masing-masing 23,52%, 48,59%, 52,62% dan 60,09%. Pada uji ANOVA T1, T2 dan T3 sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan pencernaan bahan organik kulit singkong.

Nilai pencernaan bahan organik tertinggi pada T3 yaitu amofer, lalu tertinggi kedua dan ketiga yaitu T2 (fermentasi) dan T1 (amoniasi). Nilai pencernaan bahan organik T2 dan T3 yang lebih tinggi dibandingkan dengan T1 disebabkan adanya penggunaan bakteri dari EM4. Mikrobial pada EM4 mampu mencerna komponen serat kasar yang terkandung pada kulit singkong secara optimal dibandingkan dengan T1 perlakuan amoniasi dimana proses perombakan yang terjadi hanya pada strukturnya saja yaitu pelunakan ikatan lignoselulosa. Kandungan SK dalam pakan akan menyebabkan rendahnya nilai degradasi, karena SK yang berupa selulosa dan hemiselulosa sering berikatan dengan lignin dan akan sulit untuk dipecah oleh enzim pencernaan (Tillman dkk, 1991).

Penambahan inokulum pada T2 dan T3 ini menyebabkan pertumbuhan

bakteri pada substrat semakin banyak, sehingga aktivitas enzim juga meningkat dalam mengurai komponen serat menjadi molekul yang lebih sederhana. Sandi dkk, (2013) menyatakan bahwa penambahan inokulum akan semakin mempercepat proses fermentasi dan semakin banyak substrat yang didegradasi. Tinggi rendahnya penurunan kandungan serat kasar erat kaitannya dengan komponen penyusun serat kasar terutama kandungan lignin. Lignin yang tinggi

akan mengakibatkan sulitnya mikroorganisme (bakteri) mendegradasi bahan, sehingga perubahan penurunan serat kasar menjadi rendah. Kulit mengandung 7,2% lignin, 13,8% selulosa dan 11% hemiselulosa (Sandi dkk., 2013).

Protein kasar

Data perlakuan pada protein kasar kulit singkong ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Protein kasar kulit singkong

Perlakuan	Protein kasar (%)
T0	9,121 ^c
T1	22,281 ^a
T2	13,908 ^b
T3	23,314 ^a

Keterangan: Hasil analisis Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Perlakuan kontrol (T0), amoniasi (T1), fermentasi (T2) dan amofer (T3) pada kulit singkong menghasilkan kandungan protein kasar masing-masing sebesar 9,121%, 22,281%, 13,908% dan 23,314%. Pada uji ANOVA T1, T2 dan T3 sangat nyata ($P < 0,01$) meningkatkan protein kasar pada kulit singkong dan pada uji DUNCAN pengaruh perlakuan T1 dengan T3 tidak berbeda nyata kemampuannya dalam menurunkan HCN pada kulit singkong, namun T1 dan T3 dengan T0 dan T1 sangat berbeda nyata ($T < 0,01$).

Pada T2 (fermentasi) memiliki kemampuan terendah dalam meningkatkan protein kasar pada kulit singkong sebesar 13,908% yang dibandingkan hanya meningkatkan sekitar 4,77% dari kontrol (T0) yang protein kasarnya sebesar 9,121%. Lama fermentasi yang singkat mengakibatkan terbatasnya kesempatan dari mikroorganisme untuk terus

berkembang, sehingga komponen substrat yang dapat dirombak menjadi massa sel juga akan sedikit tetapi dengan waktu yang lebih lama berarti memberi kesempatan bagi mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang biak (Kasmiran, 2011).

Dalam proses fermentasi, bakteri *Lactobacillus* pada EM4 mampu memecah protein menjadi asam amino, namun ternyata kemampuannya dalam meningkatkan kadar protein kasar hanya sebesar 4,77%. Hal ini disebabkan karena pemecahan protein menjadi asam amino *Lactobacillus* juga tidak optimal karena pertumbuhannya cenderung lambat (Tifani dkk., 2010).

Perlakuan T1 dan T3 tidak berbeda nyata, artinya memiliki tingkat kemampuan yang sama untuk meningkatkan protein kasar pada kulit singkong. Eko dkk., (2013) menyebutkan bahwa amoniak yang dihasilkan oleh proses urealisis akan terserap dan berikatan dengan gugus

asetil dari bahan pakan, kemudian membentuk garam amonium asetat yang pada akhirnya terhitung sebagai protein bahan.

Nilai protein kasar yang dihasilkan T3 lebih besar dengan selisih 1,033% dibandingkan dengan perlakuan T1. Pada umumnya perlakuan amofer menghasilkan protein kasar yang lebih rendah dibandingkan dengan hanya memberikan perlakuan amoniasi saja, karena pada amofer sebagian nitrogen yang seharusnya digunakan untuk

memasok kebutuhan penambahan protein digunakan bakteri sebagai makanan untuk kebutuhan hidupnya.

Penurunan kandungan protein kasar pada perlakuan amofer kemungkinan disebabkan bakteri selulolitik yang ditambahkan untuk hidupnya butuh nitrogen (Nurhajati dan Tatang, 2012).

Asam sianida (HCN)

Kandungan asam sianida setiap perlakuan ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Asam sianida kulit singkong

Perlakuan	Kandungan asam sianida (ppm)
T0	580,93 ^a
T1	3,10 ^b
T2	1,16 ^b
T3	0,34 ^b

Keterangan: Hasil analisis Laboratorium Gizi, Fakultas Gizi, Universitas Muhammadiyah, Semarang.

Perlakuan kontrol (T0), amoniasi (T1), fermentasi (T2) dan amofer (T3) pada kulit singkong menghasilkan HCN masing-masing 580,93 ppm, 3,10 ppm, 1,16 ppm dan 0,34 ppm. Pada uji ANOVA T1, T2 dan T3 sangat nyata ($P < 0,01$) menurunkan HCN pada kulit singkong dan pada uji DUNCAN pengaruh perlakuan T1, T2 dan T3 tidak saling berbeda sangat nyata ($P < 0,01$) kemampuannya dalam menurunkan HCN pada kulit singkong.

Pada T1 memiliki kemampuan terendah dalam menurunkan HCN dibandingkan dengan T2 dan T3. Diduga asam sianida hilang terlarut di air pada saat proses amoniasi, dimana perlakuan amoniasi diberi tambahan air hingga kandungan air mencapai 50%. Selain itu, sebelum diberi perlakuan amoniasi, kulit singkong mendapat perlakuan fisik yaitu dicincang dengan ukuran kecil-kecil, sehingga akan lebih mempermudah melarutkan HCN pada penambahan air dalam proses amoniasi

itu sendiri. Hal ini sesuai dengan pendapat Hanifah dkk, (2010) yang menyatakan bahwa proses degradasi HCN meningkat apabila direndam dalam air setelah terlebih dahulu dicincang, merusakkan fisik sel (pencincangan) tanpa perendaman akan memperlambat pembebasan sianida. HCN mudah larut pada air tersebut kemudian akan lepas ke udara setelah peraman amoniasi dibuka. Stephanie dan Purwadaria (2013) menyatakan bahwa HCN bersifat mudah larut dalam air dan mudah lepas ke udara.

Pada T2 dan T3 memiliki kemampuan yang tinggi untuk menurunkan HCN pada kulit singkong. Selain HCN hilang pada saat dicincang dan larut dalam penambahan air pada perlakuannya, enzim pada proses fermentasi juga menjadi faktor hilangnya HCN pada kulit singkong. Proses fermentasi menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi linamarin. Nurlaili dkk, (2013) menyatakan bahwa

kadar HCN menurun seiring dengan bertambahnya lama fermentasi karena semakin bertambahnya waktu fermentasi maka semakin meningkat pula kemampuan enzim dalam mendegradasi linamarin menjadi senyawa yang tidak membahayakan. Kandungan HCN pada kulit singkong dari hasil perlakuan T1, T2 dan T3 sudah aman dikonsumsi oleh kambing dan tidak akan mengalami keracunan. Ternak kambing dan domba mampu mentoleransi asam sianida pada konsentrasi 2,5 – 4,5 ppm per kg bobot hidup (Hanifah dkk, 2010).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang paling baik untuk meningkatkan pencernaan bahan kering dan bahan organik, meningkatkan protein kasar serta menurunkan kadar HCN pada kulit singkong yaitu T3 (amofer).

DAFTAR PUSTAKA

- Eko, D. P., Junus, M dan Nasich, M. 2013. Pengaruh penambahan urea terhadap kandungan protein kasar dan serat kasar padatan lumpur organik unit gas bio. Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan. 17 (1) : 1 – 11.
- Hanifah, V. W., Yulistiani, D. dan Asmarasari, S.A. A. 2010. Optimalisasi pemanfaatan limbah kulit singkong menjadi pakan ternak dalam rangka memberdayakan pelaku usaha enye-enye. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Hastuti, D., Shofia, N. A. dan Baginda, I. M. 2011. Pengaruh perlakuan teknologi amofer (amoniasi fermentasi) pada limbah tongkol jagung sebagai alternatif pakan berkualitas ternak ruminansia. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan Mediagro. 7 (1) : 55 – 65.
- Kasmiran, A. 2011. Pengaruh lama fermentasi jerami padi dengan mikroorganisme lokal terhadap kandungan bahan kering, bahan organik dan abu. Jurnal Lentera. 11 (1) : 48-52.
- Nurhajati, T. dan Tatang, S. 2012. Penurunan serat kasar dan peningkatan protein kasar sabut kelapa (*Cocos nucifera* Linn) secara amofer dengan bakteri selulolitik (*Actinobacillus ML-08*) dalam pemanfaatan limbah pasar sebagai sumber bahan pakan. Jurnal Agrovet. 3 (1) : 27 – 38.
- Nurlaili, F., Suparwi dan Sutardi, T. R. 2013. Fermentasi kulit singkong (*Manihot utilissima* pohl) menggunakan *Aspergillus niger* pengaruhnya terhadap pencernaan bahan kering (KcBK) dan pencernaan bahan organik (KcBO) secara *In-Vitro*. Jurnal Ilmiah Peternakan.1 (3) : 856 – 864.
- Prasetyawan, R. M., Tampoebolon, B. I. M., dan Surono. 2012. Peningkatan kualitas tongkol jagung melalui teknologi amoniasi fermentasi (amofer) terhadap pencernaan bahan kering dan bahan organik serta protein total secara *in vitro*. Animal Agriculture Journ.1 (1) : 611 – 621.
- Riswandi, Sandi, S., Meisji, L. S., Muhakka dan Asep, I. M. A. 2009. Peningkatan produksi ternak sapi dengan teknologi amonia fermentasi (amofer) jerami padi di Desa Tanjung Pering, Kecamatan Indralaya utara, Kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan. Jurnal

- Pengabdian Sriwijaya. 2 (1) : 73 – 79.
- Sandi, Y. O., Rahayu, S. dan Wardhana, S. 2013. Upaya peningkatan kualitas kulit singkong melalui fermentasi menggunakan *Leuconostoc Mesenteroides* pengaruhnya terhadap pencernaan bahan kering dan bahan organik secara *In Vitro*. Jurnal Ilmiah Peternakan.1 (1) : 99 – 108.
- Santoso, U. dan Aryani, I. 2007. Perubahan komposisi kimia daun ubi kayu yang difermentasi oleh EM4. Jurnal Sains Peternakan Indonesia. 2 (2) :53 – 56.
- Stephanie dan Purwadaria, T. 2013. Fermentasi substrat padat kulit singkong sebagai bahan pakan ternak unggas. WARTAZOA. 23 (1) : 15 -22.
- Tifani, A. M., Kumalaningsih, S. dan Mulyadi, A. F. 2010. Produksi bahan pakan ternak dari ampas tahu dengan fermentasi menggunakan EM4 (Kajian pH awal dan lama waktu fermentasi). Jurnal Ilmiah Peternakan. 5 (1) : 78 – 88.
- Tilley, J. M. A and Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J Br Gassl Soc.* 18:104-109.
- Tillman, A. D., Hartadi, S. Reksohadiprodjo, S. Prawirokoesoemo dan S. Lendosoekodjo. 1991. Ilmu makanan ternak. Cetakan Kedua Peternakan. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.